

نخستین همایش ملی میکروبیولوژی کاربردی ایران

بررسی اثر آمونیاک ایجاد شده در اثر هیدرولیز اوره توسط آنزیم اوره آز *Helicobacter pylori* در تخریب لایه سلولی

نوری زاده، عزت^۱؛ شکوهی، دکتر بهروز^۲؛ خدایاری، مهندس علی^۳

^۱. دانشکده علوم دانشگاه محقق اردبیلی، گروه میکروب شناسی

^۲. دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، گروه پاتوبیولوژی

^۳. دانشکده علوم دانشگاه محقق اردبیلی، گروه شیمی، آزمایشگاه میکروسکوپ الکترونی

nourizade@yahoo.com

Helicobacter pylori به عنوان یک عامل مهم در ایجاد گاستریت مزمن، زخم معده و اثنی عشر محسوب می شود. این میکروارگانیسم در لایه مخاطی سلول های اپی تلیال قرار می گیرد و موجب بروز ضایعات بافتی و التهاب می گردد. با توجه به این مهم هدف از این مطالعه پی بردن به نقش آمونیاک ایجاد شده در اثر هیدرولیز اوره توسط آنزیم اوره آز *Helicobacter pylori* در تخریب لایه سلولی می باشد.

بررسی بر روی ۵۰ نمونه بیوپسی صورت گرفت. نمونه ها در داخل محیط ترانسپورت به آزمایشگاه میکروبیولوژی انتقال داده شدند، سپس هویت باکتری رشد کرده با استفاده از بررسی های میکروسکوپی و تست های بیوشیمیایی تعیین گردید. کشت ۴۰ نمونه بیوپسی مثبت بود. اثر مستقیم سوپرناتانت حاوی آنزیم اوره آز استخراج شده از ۴۰ نمونه باکتری بر روی کشت سلول هلا بررسی شد. همچنین برای بررسی عامل ایجاد کننده ضایعات سلولی از آمونیاک در ^۱PBS با غلظت های نهایی ۷، ۸، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۲، ۳۲ و ۴۰ میلی مولار استفاده شد. یافته ها حاکی از آن بودند که در حضور آنزیم اوره آز و غلظت ۲۰ میلی مولار اوره، رنگ محیط کشت به صورت ارغوانی در آمد و واکوئل های داخل سلولی تشکیل گردیدند که این دگرگونی نشانه تولید آمونیاک به مقدار زیاد است. همچنین در این مطالعه مشخص شد که از غلظت ۸ میلی مولار به بعد اثر تخریب سلولی به صورت واکوئل مشاهده می شود و در غلظت ۴۰ میلی مولار آمونیاک، تخریب کامل لایه سلولی ایجاد می گردد. با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می آید تخریب لایه سلولی توسط آمونیاک در محدوده غلظت های ۸ میلی مولار تا ۴۰ میلی مولار انجام می گیرد و با افزایش غلظت آمونیاک از ۸ میلی مولار به بعد بر شدت تخریب لایه سلولی نیز افزوده خواهد شد. پس می توان نتیجه گرفت که در عامل بیماری زا بودن آنزیم اوره آز *Helicobacter pylori* میزان غلظت های آمونیاک ایجاد شده در شدت ویرولانسی نقش اساسی را داشته و یک ماده توکسیک محسوب می شود و باعث ایجاد گاستریت مزمن و زخم معده می شود.

کلمات کلیدی: آمونیاک، آنزیم اوره آز، تخریب سلولی، *Helicobacter pylori*

Study of the effect Ammonia and *Helicobacter pylori* Urease Enzyme on Cell Layer Lesion

Nourizadeh¹, E.; Shokuh², B.; Khodayari³, A.

1. Sciences Faculty, Mohaghegh Ardabili University, Iran.

nourizade@yahoo.com

2. Pathology Faculty, Medical Sciences Ardabil University, Iran.

3. Scanning Electron Microscopy Lab., Chemistry Dept., Sciences Faculty, Mohaghegh Ardabili University, Iran

Various evidence indicate that *Helicobacter pylori* is one of significant factors in gastric ulcer and duodenal ulcers this microorganism, which is seen in mucousal layer cause tissue lesions and inflammation. In this study, the role of urease enzyme and ammonia in causing cell lesions was investigated.

The study was carried out on 50 biopsy specimens. The biopsy samples were transferred to the Microbiology laboratory in transport medium. Then, the identification of bacteria was done by microscopic examination and biochemical tests. The cultures of 40 samples of biopsy were positive. The direct effect of supernatant containing urease enzyme extracts from 40 bacterium samples on HeLa cell was investigated. To investigate the factors causing cell lesions ammonia was used in PBS with concentrations of 7, 8, 10, 15, 20, 22, 32 and 40 m.molar.

In the presence of urease enzyme and a concentration of 20 m.molar of urea, the colour of the culture medium turned in to purple. This change was a sign of the production of large amounts of ammonia. In this study while, in concentrations over 8 m.molar the cytopathic effect was observed in the form of vacuoles, and in the concentration of 40m.molar of ammonia the full erosion of cell layer occurred.

Therefore, based on the results of this investigation, urease enzyme is not directly harmful. It is the ammonia produced as a result of hydrolyze of urea by urease enzyme which has toxic effects and causes inflammation and ulcers.

Key Words: Ammonia, Urease Enzyme, cytopathic, *Helicobacter pylori*